动 物 学 研 究 2012，Apr. 33(2): 231−236 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI：10.3724/SP.J.1141.2012.02231

酸性环境下铝对斑马鱼运动行为和学习记忆能力的影响暨与阿尔海默茨症的相互关系

何 雄[1,2], 仲兆民[1], 车 轶[2,*]

（1. 苏州大学 生物钟研究中心, 江苏 苏州 215123; 2. 苏州大学 基础医学与生物科学学院, 江苏 苏州 215123）

摘要：运用行为学方法通过金属离子诱发神经毒性，建立阿尔海默茨症动物模型。通过运动行为观察、应激回避条件模型检测在 pH 值为 7.8、6.8、5.8 条件下暴露铝离子 24 h 和 96 h 后铝离子对成年斑马鱼运动行为和学习记忆能力的作用, 探讨金属元素在酸性环境下诱发神经毒性导致阿尔海默茨症与运动行为、学习记忆的关系。结果表明, pH 5.8 铝离子组暴露 96 h 的运动行为活性和学习记忆能力与 pH 7.8 铝离子组和 pH 6.8 铝离子组相比有较显著变化。同时，pH 5.8 铝离子组暴露 96 h 运动行为活性和学习记忆能力与 pH 5.8 铝离子组暴露 24 h 相比出现明显降低。这些都表明，铝在酸性环境下，与 pH 相互作用影响斑马鱼的运动行为与学习记忆能力,可能造成斑马鱼大脑关于记忆功能区域出现损伤, 诱发神经毒性产生类似阿尔海默茨症发病症状。

关键词：铝; 酸性环境; 运动行为; 学习记忆能力; 阿尔海默茨症
中图分类号：R749.16; Q959.468; Q95-33; X174 **文献标志码**：A **文章编号**：0254-5853-(2012)02-0231-06

Locomotor activity and learning and memory abilities in Alzheimer’s disease induced by Aluminum in an acid environment in Zebrafish

HE Xiong[1,2], ZHONG Zhao-Ming[1], CHE Yi[2,*]

(1. *Circadian Clock Center*, *Suzhou University*, *Suzhou* 215123, *China*; 2. *School of Biology and Basic Medical Sciences*, *Suzhou University*, *Suzhou* 215123, *China*)

Abstract: We investigated the contribution of locomotor activity and learning and memory abilities to Alzheimer's disease induced by metal neurotoxicity. The metal neurotoxicity model was established by using locomotor activity tests and activity-avoidance conditioning paradigms, and observing changes in zebrafish behaviors after exposure to 50 μg/L of $AlCl_3$ with different pH values (pH 7.8, pH 6.8 and pH 5.8) for 24 hours and 96 hours. The results showed Alzheimer's disease-like behavior in locomotor activity tests and activity-avoidance conditioning paradigms by zebrafish receiving $AlCl_3$ in pH 5.8 significantly decreased compared to the control group and groups receiving $AlCl_3$ in pH 7.8 and pH 6.8 for 96 hours and 24 hours. These results provide evidences that exposure to $AlCl_3$ in an acid environment can influence locomotor activity and learning and memory abilities in zebrafish. In addition, exposure time and concentration of Al induced neurotoxicity and damaged the brain area of memory, resulting in Alzheimer's disease-like behavior.

Key words: Aluminum; Acid environment; Locomotor activity; Learning and memory abilities; Alzheimer's disease

阿尔海默茨症(Alzheimer' s disease, AD)是一种进行性神经退化疾病和老年痴呆最常见的症状, 影响了全球数百万人的身心健康, 表现为认知和记忆功能不断恶化, 日常生活能力进行性减退, 并伴有各种神经精神症状和行为障碍(Small et al, 1997), 病因可能涉及遗传和环境因素。在对犹他州的长期居住人群调查发现, 当地环境状况与阿尔海默茨症易感基因相互作用能够影响和导致症状产生, 且随着时间的推移, 环境变化起主要作用 (García et al, 2002)。因此, 研究阿尔海默茨症的病因、机制、治疗方法既是临床研究的重要问题, 也是神经科学, 环境毒理学研究高度关注的问题。

收稿日期：2011-08-22；接受日期：2011-10-10
基金项目：苏州市医学基础研究项目 (YJS0904)
*通信作者(Corresponding author)，E-mail: cheyiwenshan@sina.com.cn
第一作者简介：何雄, 男, 硕士研究生, 主要从事发育神经生物学方面的研究

铝是一种地壳中含量较多的人体非必需金属元素，适量摄入对人体无害，积聚在人体内有助于金属离子平衡；具有生物活性的铝不能进入大脑，极少量的铝有助于大脑组织的选择性吸收，但是离子形式铝的大量积累将导致新陈代谢的紊乱(Tomljenovic, 2011; Senger et al, 2011)。铝对于生活在酸性和碱性环境中的水生生物有很大危害。研究表明，土壤酸化导致水中铝离子积累进而致使大西洋鲑鱼数量减少、生殖功能急剧衰退，且对于组织和大脑均存在毒性效应 (Monette & McCormick, 2008; Oteiza et al, 1993)。流行病学研究也揭示污水中所存在的过量的铝与神经变性有极大关联(Rondeau et al, 2009; Shcherbatykh & Carpemter, 2007)。铝在鱼类中产生毒性大多数与水的pH值相关，可溶性铝能够降低水的pH值和升高无机铝的含量，无机铝对鱼类有很强毒性作用，而水的酸性对鱼类血液循环、内分泌、代谢和生殖功能都有影响(Camargo et al, 2009；Nilsen et al, 2010)。但是，到目前为止，铝导致神经毒性的作用机理还不清楚。

金属元素(主要为铝)能够潜伏在人体或动物体内，积累到一定量诱发神经毒性，表现为：(1)淀粉样蛋白增加(Walton & Wang, 2009; Chen & Penington, 2000)；(2)神经纤维出现异常，轴突运输出现停滞(Walton, 2006; Perl & Moalem, 2006)；(3)神经传递过程中胆碱等神经递质和 G-蛋白信号级联损伤(Cowburn et al, 2001)。有证据表明，铝等金属离子的积累可能导致人和动物阿尔海默茨症的发病和恶化，如学习和记忆能力衰退；血透析时有高含量血清铝积累的患者伴随有心脏震颤，全身性抽搐，视觉记忆能力不断下降等症状 (Zatta et al, 2003) 。铝的积累会导致相关蛋白质的氧化修饰，Kumar et al（2008)报道铝和脂褐素的含量增加可能危害神经元的活动，导致抗氧化剂和金属离子的消耗。老年小鼠(≥24 个月) 接触铝制剂连续 15 个星期后，其海马神经元中存在铝的积累，记忆能力显著降低且表现类似阿尔海默茨症的老年痴呆症迹象，可以推测铝与淀粉样蛋白以及阿尔海默茨症神经元纤维缠结的形成有很大关系，但其生理机制还不清楚 (Tripathi et al,2009) 。

本研究通过检测非致死酸性环境，微量铝离子暴露下斑马鱼运动行为和学习记忆能力的变化，探讨铝在酸性环境中的毒理效应，为研究金属离子与神经系统疾病的发病机制、构建疾病模型、环境治理和相应药物筛选等建立行为学基础。

1 材料和方法

1.1 实验动物及分组

健康雄性野生型斑马鱼(*TUB ABC*)，由苏州大学生物钟研究中心提供，实验前饲养于中心鱼房，温度维持在(28±2)℃，每 10～20 条饲养于 3 L 的系统水循环鱼缸，白天用丰年虾定时喂食 3 次。选择外形完整、条纹分明、鳞片有光泽、体长(3.05±0.41) cm、体重(0.36±0.15) g 的成年斑马鱼(6～18 月龄)进行实验。动物分为 12 组(24 h 和 96 h 各 6 组)，每组 10 只(实验期间不喂食，放置在 4 L 的独立鱼缸中，通过加入稀盐酸调节 pH 值)：A 组为 pH 7.8 对照组；B 组为 pH 6.8 对照组；C 组为 pH 5.8 对照组；D 组为 pH 7.8 铝离子($AlCl_3$)组(50 μg/L)；E 组为 pH6.8 铝离子($AlCl_3$)组(50 μg/L)；F 组为 pH 5.8 铝离子($AlCl_3$)组(50 μg/L)。

1.2 主要试剂

稀盐酸(HCl)、氯化铝($AlCl_3$)试剂(结晶体装)购于国药集团。

1.3 行为学观察

1.3.1 运动行为活性 10：00—12：00 测定暴露 24 h 和 96 h 后各组动物的运动行为，包括游弋距离(exploring distance)、平均速度(average speed)。实验前先将每条鱼放置在开放环境模型(图 1)中适应 30 s (水深 6 cm)；然后用斑马鱼行为仪(Videotrack; ViewPoint Life Sciences, 法国, 里昂)自动记录其行为 5 min；测定结束后放置在编号为 1～10 的独立小鱼缸。

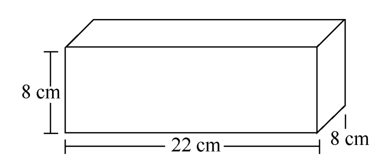


图 1 开放环境模型
Fig. 1 Open-conditioning paradigm

1.3.2 应激回避条件模型 使用聚乙烯材料构建一个穿梭箱(图 2)(长 20 cm×宽 8.5 cm×高 6 cm)，通过一块不透明挡板将穿梭箱平均分成两个相等大小的区域，挡板底留出 1～2 cm 的空间允许动物通过，水深 3 cm。本实验依据斑马鱼对黑暗的偏好性分别设置光亮区域和黑暗区域。光亮区域通过红

光来照射；黑暗区域由黑色挡板覆盖穿梭箱顶遮光，同时在黑暗区域两侧对称设置电流为 50 mA/s 的正负电极。当电击时，斑马鱼必须穿过中间挡板下区域到达光亮区域躲避电击（黑暗偏好性为非条件刺激，电击为条件刺激）。实验分为观察期、训练期和测试期，通过比较训练期和测试期斑马鱼躲避电击的标准时长来判断其学习记忆能力是否形成，因此，该模型也称为电击躲避行为模型(Rawashdeh et al, 2007)。

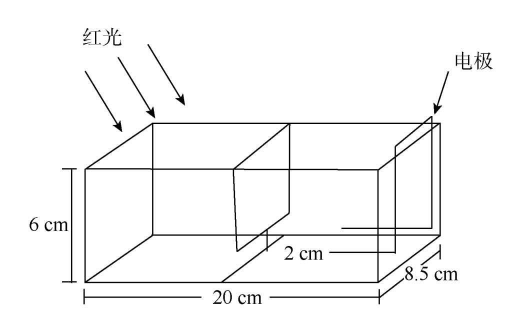


图 2　应激回避条件模型
Fig. 2　Active-avoidance conditioning paradigm

1.3.3　学习记忆能力的测定　观察期：训练前检测动物的黑暗区域停留时间，设置好实验装置和实验环境(室内保持黑暗)，暗区不设置电极。每组斑马鱼编号为 1～10，依次放入实验装置亮区观察其在 5 min 内停留在暗区的时间，不少于 4 min 即可确定其偏好性，实验结束后，放回鱼缸。训练期：将电极设置在暗区电击实验组鱼，训练时间为 30 s。先将动物放入亮区，10 s 内如果不进入暗区，视为学会躲避暗区电击形成记忆；如果进入暗区，电击 20 s 后放回小鱼缸，电击训练至其学会躲避电击，标准为 10 次连续实验有 8 次在 10 s 内不进入暗区的时间(如果 10 次达不到标准则继续训练至成绩达到 80%)。测试期：将动物放置回开放区域 24 h 后检测，同时统计训练其达到学会躲避电击的标准时间，实验完毕，放回鱼缸。最后统计训练期学会标准时间和测试期学会标准时间，计算记忆得率进行统计分析，通过公式得出记忆得率：

$$\frac{(\text{训练期学会标准时间}-8)-(\text{测试期学会标准时间}-8)}{(\text{训练期学会标准时间}-8)+(\text{测试期学会标准时间}-8)}$$

1.4　数据处理

用 SPSS17.0 软件进行数据处理，数据以平均值±标准误(mean±*SE*)表示，总体比较检验采用单因素方差分析(one-way ANOVA)，组间多重比较采用事件后分析-检验(post-hoc, LSD)和 *t*-检验，$P<0.05$ 为显著差异，$P<0.01$ 为极显著差异。

2　结　果

2.1　运动行为活性测试结果

2.1.1　24 h 铝离子暴露后运动活性　pH 5.8 铝离子组的游弋距离和平均速度显著高于对照组($F_{pH5.8,pH5.8Al}$=8.508, $P<0.05$)，可能是暴露 24 h 后出现的短暂应激效应导致运动活性升高。pH 7.8 和 pH 6.8 条件下铝离子组游弋距离和平均速度相比对照组有一定程度降低，但无显著差异($F_{pH7.8,pH7.8Al}$=0.707, $P>0.05$; $F_{pH6.8,pH6.8Al}$=0.538，$P>0.05$)(表 1)。

表 1　斑马鱼在 24 h 铝离子暴露下运动活性测试的表现(mean±*SE*)
Tab. 1　Effects produced by 24 h aluminum exposure on locomotor activity test

分组 Group	个数 Number	游弋距离 Exploring distance (cm)	平均速度 Average speed (cm/s)
pH 7.8 对照组 pH7.8 Control group	10	1273.69±98.334	4.2456±0.327
pH 6.8 对照组 pH6.8 Control group	10	1045.52±80.302	3.5680±0.198
pH 5.8 对照组 pH5.8 Control group	10	1119.58±37.611*	3.7450±0.047*
pH 7.8 铝离子组 pH 7.8 Aluminum ion group	10	1127.79±73.189	3.7590±0.244
pH 6.8 铝离子组 pH 6.8 Aluminum ion group	10	942.29±54.063	3.1450±0.181
pH 5.8 铝离子组 pH 5.8 Aluminum ion group	10	1363.98±123.371*	4.5470±0.411*

pH 7.8、pH 6.8 和 pH 5.8 条件下铝离子暴露 24 h 后，斑马鱼在开放环境模型的运动活性测试中 5 min 内游弋距离和平均速度。
*：显著差异($P<0.05$)；**：极显著差异($P<0.01$)。
Six groups of zebrafish showd that different exploring distance and average speed in 5 min by aluminum exposure at pH 7.8, pH 6.8 and pH 5.8 for 24 h in the open-conditioning paradigm, meaning of locomotor activity. *: significant difference ($P<0.05$), **: dramatic difference ($P<0.01$).

2.1.2　96 h 铝离子暴露后运动活性　pH 5.8 铝离子组的游弋距离和平均速度显著低于对照组($F_{pH5.8,pH5.8Al}$=0.002, $P<0.01$)、pH 7.8 铝离子组($F_{pH5.8Al,pH7.8Al}$=2.353, $P<0.01$)和 pH 6.8 铝离子组($F_{pH5.8Al,pH6.8Al}$=0.162, $P<0.01$)。pH 7.8 和 pH 6.8 铝离子组游弋距离和平均数速度虽有不同程度的降低，但是相比对照组无显著差异($F_{pH5.8,pH7.8Al}$=9.799, $P>0.05$; $F_{pH6.8,pH6.8Al}$=4.365, $P>0.05$)(表 2)。

表 2　斑马鱼在 96 h 铝离子暴露下运动活性测试的表现(mean±*SE*)

Tab. 2　Effects produced by 96 h aluminum exposure on locomotor activity test

分组 Group	个数 Number	游弋距离 Exploring distance (cm)	平均速度 Average speed (cm/s)
pH 7.8 对照组 pH 7.8 Control group	10	1166.66±21.492	3.8889±0.072*
pH 6.8 对照组 pH 6.8 Control group	10	939.79±108.346	3.1340±0.361
PH 5.8 对照组 pH 5.8 Control group	10	987.42±54.935**	3.2910±0.183**
pH 7.8 铝离子组 pH 7.8 Aluminum ion group	10	1009.11±96.047**	3.3637±0.320**
pH 6.8 铝离子组 pH 6.8 Aluminum ion group	10	943.29±45.988**	2.9660±0.174**
pH 5.8 铝离子组 pH 5.8 Aluminum ion group	10	581.48±53.233**	1.9380±0.177**

pH 7.8、pH 6.8 和 pH 5.8 条件下，铝离子暴露 96 h 后 6 组斑马鱼在开放环境模型的运动活性测试中 5 min 内游弋距离和平均速度。
*：显著差异(P<0.05); **：极显著差异(P<0.01)。

Six groups of zebrafish showd that different exploring distance and average speed in five minutes by aluminum exposure at pH 7.8, pH 6.8 and pH 5.8 for 96 h in the open-conditioning paradigm, meaning of locomotor activity. *: significant difference (P<0.05); **: dramatic difference (P<0.01).

2.2　学习记忆能力测试结果

2.2.1　应激回避条件模型学习能力　各组斑马鱼在铝离子暴露 24 h 和 96 h 后在训练期学会标准的时间总体比较(图 3)检测学习能力的变化。暴露 24 h 后 pH 7.8 铝离子组、pH6 .8 铝离子组和 pH 5.8 铝离子组与对照组相比，学会标准时间有升高的趋势，但无显著差异 ($F_{pH7.8Al,pH7.8}$=6.724, P>0.05; $F_{pH6.8Al,pH6.8}$= 5.913, P>0.05; $F_{pH5.8Al,pH5.8}$=0.709, P>0.05), 学习能力没有出现明显降低，与行为参数变化相对应。 铝离子暴露 96 h 后，检测其训练后学习记忆能力结果，显示 pH 5.8 铝离子组学会标准时间明显高于 pH 6.8 铝离子组($F_{pH5.8Al,\ pH6.8Al}$=0.134, P<0.01)和 pH 7.8 铝离子组($F_{pH5.8Al,\ pH7.8Al}$=0.003, P<0.01)。同时，明显高于暴露 24 h pH 5.8 铝离子组($F_{pH5.8Al96,\ pH5.8AL24}$= 0.272, P<0.05)。

2.2.2　应激回避条件模型记忆能力　各组斑马鱼在铝离子暴露 24 h 和 96 h 后，在训练期记忆得率总体比较(图 4)检测记忆能力的变化。 铝离子暴露 24 h 后结果显示, pH 7.8 铝离子组、pH 6.8 铝离子组、pH 5.8 铝离子组与对照组相比无显著差异($F_{pH7.8Al,pH7.8}$=6.724, P>0.05; $F_{pH6.8Al,pH6.8}$=5.913, P> 0.05; $F_{pH5.8Al,pH5.8}$=0.709, P>0.05), 记忆能力无明显降低，暴露 96 h 后检测期记忆能力结果显示, pH 5.8 铝离子组记忆得率显著高于对照组($F_{pH5.8Al,\ pH5.8}$= 1.010, P<0.01)、pH 7.8 铝离子组($F_{pH5.8Al,\ pH7.8Al}$= 0.835, P<0.01)和 pH 6.8 铝离子组($F_{pH5.8Al,\ pH6.8Al}$=

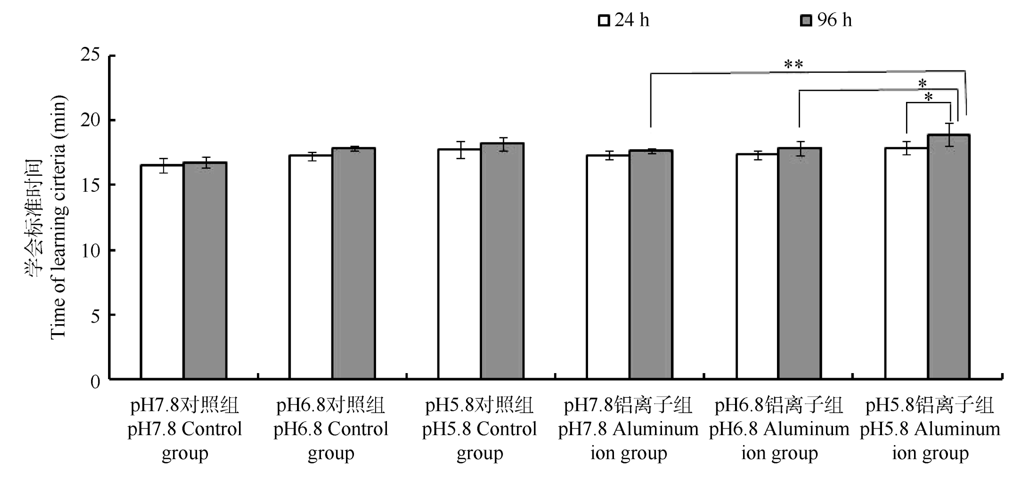


图 3　斑马鱼在铝离子暴露 24 h 和 96 h 后，训练期学会标准时间的表现

Fig. 3　Effects produced by aluminum exposure for 24 h and 96 h on time of learning criteria

pH 7.8、pH 6.8 和 pH 5.8 条件下，铝离子暴露 24 h 和 96 h 后 12 组斑马鱼在应激回避条件模型进行学习能力的测试, 检测训练期学会标准时间的长短情况, 表示学习能力的高低。*：显著差异(P<0.05);**：极显著差异(P<0.01)。

Twelve groups of zebrafish showed that different training period to learning criteria by aluminum exposure at pH 7.8, pH 6.8 and pH 5.8 for 24 h and 96 h in the active-avoidance conditioning paradigm, meaning of learning ability. *: significant difference (P<0.05), **: dramatic difference (P<0.01).

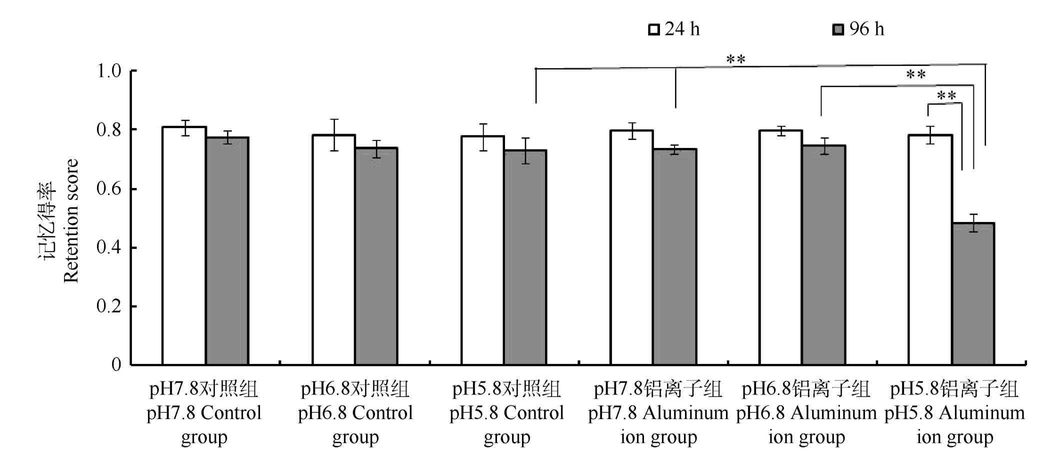


图 4　斑马鱼在铝离子暴露 24 h 和 96 h 后检测期记忆能力的表现

Fig. 4　Effects produced by aluminum exposure for 24 h and 96 h on memory ability

pH7.8、pH6.8 和 pH5.8 条件下，铝离子暴露 24 h 和 96 h 后 12 组斑马鱼在应激回避条件模型进行记忆能力的测试, 检测期记忆能力的高低通过由公式计算的记忆得率表示。*：显著差异（P<0.05); **：极显著差异（P<0.01）。

Twelve groups of zebrafish showed that different retentions by aluminum exposure at pH 7.8, pH 6.8 and pH 5.8 for 24 h and 96 h in the Active-avoidance conditioning paradigm, retention score as memory ability was calculated by the algorithm. *: significant difference (P<0.05), **: dramatic difference (P<0.01).

3.150, P<0.01)), 记忆能力出现明显降低; 而 pH 7.8 铝离子组和 pH 6.8 铝离子组与对照组相比有变化的趋势, 但无显著差异($F_{pH7.8Al,pH7.8}$=3.672, P>0.05; $F_{pH6.8Al,pH6.8}$=2.631, P>0.05)。

3　讨　论

水中 pH 的变化能够改变鱼类血液中的血红蛋白、红细胞数和细胞膜渗透压(Camargo et al,2009), 引起机体本身产生一定程度的生理变化并降低运动活性。随着暴露时间的延长, 铝能以离子形式(尤其是 Al^{3+})通过鱼鳃部在体内不断积累导致钠钾-ATP 酶(Na^{+}, K^{+}-ATPase)活性减弱, 使金属毒性不断加深, 致使鱼类运动活性减弱和死亡率升高(Nilsen et al, 2010)。在微量铝离子存在的非致死情况下，产生的毒性效应可引起乙酰胆碱酯酶活性升高, 导致鱼类运动活性降低和生殖功能减弱(Senger et al, 2011)。本实验探讨了铝离子在酸性环境下，产生的毒性效应对运动行为和学习记忆能力的影响, 以及铝与阿尔海默茨症之间的关系。通过运动活性测定方法证明了随着非致死的酸性程度(pH)加深, 铝离子能够改变斑马鱼运动活性参数(游弋距离、平均速度显著降低), 尤其是在 pH 5.8 铝离子组较对照组有明显差异。

阿尔海默茨症患者的临床症状为近期记忆能力降低, 继而表现持续性衰退、失语、判断推理能力丧失以及运动障碍等(Zhang & Liu, 2003)。学习是神经系统接受外界环境变化获得新行为和经验的过程, 记忆是学习后经验的保持和再现。因此，学习和记忆是两个相互联系的过程, 有赖于全脑功能区域的整合, 如：空间学习记忆的海马区域、隐含式学习的小脑以及回避学习的杏仁核。虽然关于斑马鱼及其他鱼类学习的神经环路机制还不十分清楚, 但是可以通过大量的行为模型来检测其学习和记忆能力, 如通过不相关的刺激条件，比如颜色、食物奖赏等建立联合式学习模型 (Hall & Suboski, 1995); 或通过穿梭箱将条件刺激和非条件刺激联合起建立回避学习模型 (Xu et al, 2007) 。这类模型能够使鱼类迅速地学会对刺激做出反应, 行为学检测具有高通量筛选性, 适合用于对病理学、毒理学及其他学习记忆相关基因进行筛选研究(Norton & Bally, 2010)。本研究中斑马鱼能够对电击(条件刺激)和趋暗性 (非条件刺激) 做出反应。 因此，可以通过建立应激回避条件模型来检测其在非致死酸性环境中铝离子暴露下的学习记忆能力。随着酸性程度的加深和暴露时间延长, 铝离子能够改变斑马鱼学习记忆能力, pH 5.8 铝离子组与 pH 7.8 铝离子组、pH 6.8 铝离子组相比, 学会标准时间明显增加, 表明铝离子暴露时间越长, 学习能力降低越明显。单 pH 变化情况下无显著差异, 由于 pH 值变化能够引起钠钾 ATP 酶活性降低和体内氯离子在血液中含量以及细胞膜渗透压的增加, 破坏组织细胞中的酸碱平衡(Camargo et al, 2009; Nilsen et al, 2010); 而

学习记忆相关基因大多与离子通道相关的受体和激酶有关，如蛋白激酶、*N*-甲基-*D*-天冬氨酸受体(*N*-methyl-*D*-asparitic acid receptor)介导学习记忆产生和变化(Rodrigues et al, 2004)，表明随着 pH 值的降低和铝离子相互作用导致学习和记忆能力出现微弱变化的趋势，而铝离子在体内大量积累的毒性作用可能影响了与学习记忆相关基因的表达，而使学习记忆能力出现明显衰退；表明斑马鱼在非致死微量铝离子暴露的酸性(pH)水环境情况下，斑马鱼暴露时间越长，其对于运动行为和学习记忆能力的影响越大，其身体机能特别是大脑神经活动有显著影响；表明铝离子等金属离子在酸性环境下与 pH 相互作用引起其行为变化和神经毒性的产生，对于人类生活环境水污染等环境治理和对于阿尔海默茨症等生理病变有指导和借鉴的意义。特别是对中老年人阿尔海默茨症的病变和病情加重和金属离子的摄入有一定相关性，对人类研究金属元素与阿尔海默茨症之间的联系和机制具有一定的参考价值，并且对于认识铝与阿尔海默茨症的病理机制有很大帮助，为后续开展分子水平的基因表达和蛋白质水平分析提供行为学基础资料。

参考文献：

Camargo MM, Fernandes MN, Martinez CB. 2009. How aluminium exposure promotes osmoregulatory disturbances in the neotropical freshwater fish *Prochilus lineatus*[J].*Aquat.Toxicol*，**94**(1)：40–46

Chen Y, Penington NJ. 2000. Competition between internal AIF(4)(-) and receptor-mediated stimulation of dorsal raphe neuron G-proteins cou-pled to calcium current inhibition[J].*J Neurophysiol*, **83**(3): 1273-1282.

Cowburn RF, O'Neill C, Bonkale WL, Ohm TG, Fastbom J. 2001. Receptor- G-protein signalling in Alzheimer’s disease[J]. *Biochem Soc Symp,* (67)**:** 163-175.

García JA, Cowburn RF, Ohm TG, Lasn H,Winblad B, Bogdanovic N, Fastbom J. 2002. Loss of stimulatory effect of guanosine triphosphate on [(35)S]GTP gamma S binding correlates with Alzheimer’s disease neurofibrillary pathology in entorhinal cortex and CA1 hippocampal sub-field[J]. *J Neurosci Res* ,**67**(3)：388-398

Hall D, Suboski MD.1995. Visual and olfactory stimuli in learned release of alarm reactions by zebra danio fish (*Brachydanio rerio*).[J]. *Neurobiol Learn Mem*, **63**(3):229-240.

Kumar P, Taha A, Sharma D, Kale RK, Baquer NZ. 2008.Effect of dehydroepiandrosterone (DHEA)on monoamine oxidase activity, lipid peroxidation and lipofuscin accumulation in aging rat brain regions[J]. *Biogerontology*, **9**(4)**:** 283-284.

Monette MY, McCormick SD.2008.Impacts of short-term acid and aluminum exposure on Atlantic salmo (*Salmo salar*) physiology: a direct comparison of parr and smolts[J]. *Aquat Toxicol*, **86**(2): 216-226.

Nilsen TO, Ebbesson LO, Kverneland OG, Kroglund F, Finstad B, Stefansson SO.2010. Effects of acidic water and aluminum exposure on gill Na+, K+-ATPase α-subunit isoforms, enzyme activity, physiology and return rates in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)[J]. *Aquat.Toxicol*, **97**(3)**:** 250-259.

Norton W, Bally CL.2010.Adult zebrafish as a model organism for behavioural genetics[J].*BMC Neurosci*，**11**:90.

Oteiza PI, Fraga CG, Keen CL. 1993. Aluminum has both oxidant and antioxidant effects in mouse brain membranes[J]. *Arch Biochem Biophysiol*, **300**(1): 517-521.

Perl DP, Moalem S. 2006. Aluminum and Alzheimer’s dis- ease, a personal perspective after 25 years[J]. *J Alzheimers Dis*, **9**(3suppl): 291-300.

Rawashdeh O, de Borsetti NH, Roman G, Cahill GM.2007.Melatonin suppresses nighttime memory formation in zebrafish[J].*Science*，**318**(5853)：1144-1146.

Rodrigues SM, Schafe GE, LeDoux JE. 2004. Molecular mechanisms underlying review emotional learning and memory in the lateral amygdala[J]. *Neuron*, **44**(1)：75-91

Rondeau V, Jacqmin-Gadda H, Commenges D, Helmer C, Dartigues JF. 2009. Aluminum and silica in drinking water and the risk of Alzheimer's disease or cognitive decline: findings from 15-year follow-up of the PAQUID cohort[J].*Am J Epidemiol*, **169**(4): 489–496**.**

Senger MR, Seibt KJ, Ghisleni GC, Dias RD, Bogo MR, Bonan CD. 2011. Aluminum exposure alters behavioral parameters and increases acctylcholinesterase activity in zebrafish (*Danio rerio*) brain[J].*Cell Biol Toxicol*, **27**(3): 199–205.

Shcherbatykh I, Carpenter DO.2007. The role of metals in the etiology of Alzheimer's disease[J]. *J Alzheimers Dis,* **11**(2): 191–205.

Small GW, Rabins PV, Barry PP, Buckholtz NS, DeKosky ST, Ferris SH, Finkel SI, Gwyther LP, Khachaturian ZS, Lebowitz BD, McRae TD, Morris JC, Oakley F, Schneider LS, Streim JE, Sunderland T, Teri LA, Tune LE. 1997. Diagnosis and treatment of Alzheimer disease and related disorders. Consensus statement of the American Associationfor Geriatric Psychiatry, the Alzheimer’s Associat ion, and the American Geriatrics Society[J]. *Jama,* **278**(16)**:** 1363-1371.

.Tomljenovic L. 2011. Aluminum and Alzheimer’s disease: After a century of controversy, is there a plausible link? [J].*J Alzheimers Dis*.**23**（4）：567-598.

Tripathi S, Mahdi AA, Nawab A, Chander R, Hasan M, Siddiqui MS, Mahdi F, Mitra K, Bajpai VK. 2009. Influence of age on aluminum induced lipid peroxidation and neurolipofuscin in frontal cortex of rat brain: A behavioral, biochemical and ultrastructural study[J].*Brain res*，**1253**：107-116.

Walton JR. 2006. Aluminum in hippocampal neurons from humans with Alzheimer’s disease[J]. *Neurotoxicology*, **27**(3): 385- 394.

Walton JR, Wang MX. 2009. APP expression, distribution and accumulation are altered by aluminum in a rodent model for Alzheimer’s disease[J].*J Inorg Biochem*,**103**(11): 1548-1554.

Xu X, Scott ST, Kempker L, Simons K. 2007. Active avoidance conditioning in zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Neurobiol Learn Mem*, **87**(1): 72-77.

Zatta P, Lucchini R, Van RSJ, Taylor A. 2003. The role of metals in neurodegenerative processes: Aluminum, manganese, and zinc[J].*Brain Res Bull*, **62**(1): 15-28.

Zhang W, Liu ZM. 2003. Advance in Alzheimer disease[J].*Chn Biotechnol*, **23**(12)：13-16.[张伟,刘志敏.2003.阿尔茨海默氏症的研究进展.中国生物工程杂志.**23**(12): 13-16]